LAB 12

Antibiotic sensitivity test (AST)

* دورنا سابقاً ⇐ staining كان ضمن اول خطوة تشخيصية لأي infection او فحص زراعي ⇐ احدد البكتيريا اذا gram +ve/-ve

* كمان عمل culture media لحتى اختار الوسط الزراعي حسب العينة او الـ test

* ثم اعمل للعينة تزريع ⇐ احضنها لمدة ٢٤ ساعة

اليوم الثاني اعمل staining ⇐ احدد اذا البكتيريا gram +ve او gram -ve

* ثم اعمل Biochemical test ⇐ identification for organism cause infection

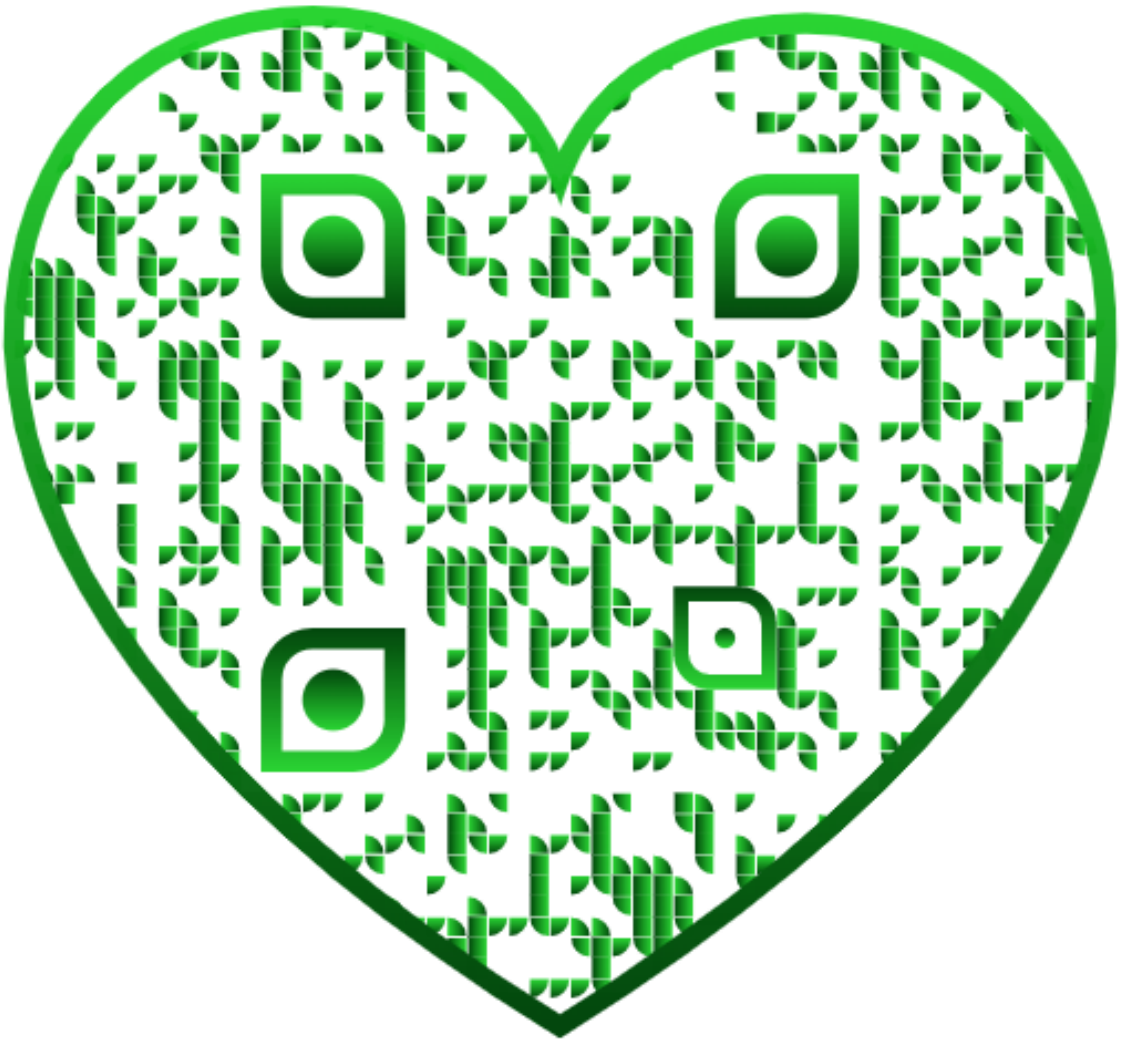
ونزلهم ونعمل له فحص اسمه Antibiotic test ⇐ لتحديد العقار الحيوي المناسب للمريض

تختلف مقاومة المضاد الحيوي من شخص الى آخر بحسب:

① مناعة الجسم

② تطور البكتيريا ضد الجسم

③ الاستخدام العشوائي للمضادات الحيوية



* تم استخدام اول مضاد حيوي 1930
ظهور اول حاله resistance للمضادات الحيويه 1990

Method :- تشتغل الـ test بثلاث طرق

① Disk diffusion
② Agar dilution (well diffusion)
③ E-test (Epsylometer test)

① Disk diffusion

يكون الـ Antibiotic على شكل دسكات
يكون اسم المضاد الحيوي والتركيز عليها.
نضعها من الـ Filter Paper والـ Zone بحجم الحزامه تبع الـ Filter Paper
نفس حزامه الأوراق نخرم الـ Filter Paper بالحزامه

* ثم نأخذ Antibiotic solution ونحطها داخل الـ Antibiotic لتتشبع ← نخليها تجف ثم اعمل لها تعقيم بواسطه Hot air oven
ثم نستخدمها.

* هذه تعتبر أهم طريقه واكثر شيوعاً واستخداماً واقل تكلفه للمضادات الحيويه لان للطبق الواحد استخدم اكثر من عشرة مضادات حيويه

② Agar dilution (well diffusion)

* يستخدموها اكثر شيء الصيادله والباحثين لما يصفوا دواء من
مستخلصات نباتيه وتختبرها على عدة بكتيريا من ال -ve او gram +ve

* واما ان تأخذ المستخلص النباتي وتخلطه مع ال agar ← لما تخضر
ال Media تخليها تبرد عند 45°م ثم تسكب المستخلص
النباتي داخل ال agar ← اعمل Mix واسكبه على ال petri-dish

وبعدما يجف يحصل له تصلب (solidification) ← اخذ البكتيريا وازرعها
على الطبق واعمل لها تحضين لمدة ٢٤ ساعه عند ٣٧°م واشوف

① إذا حصل Zone Inhibation لل agar (ما حصل نمو) ← يعني المستخلص
او الخضار الحيوي فعال

② إذا حصل نمو على الطبق ← resistance لأي ان البكتيريا
قاومت المستخلص النباتي او الخضار الحيوي

* او نستخدم الطريقه الثانيه (well diffusion)
ممكن اخذ ال Media اما MHA او Nutrient agar
أخذ Nutrient agar واعمل فيه حفر (wells) ← حفرة

بناخد glass pipet بيكون الـ Zone بحجم الـ Disk
← ويكون مومّم ← نعقمها بـ oven او radiation

⇐ اولاً اعمل بالوسط حفرة (well) بعدها أخذ المستخلص النباتي
بـ Micro pipet واحطها داخل الدائرة او اخذ Antibiotic solution
واحطها داخل الحفرة

ممكن اعمل عدة حفر (wells) وعدة مضادات حيوية نفس البكتيريا بالضبط.

احط المستخلص بتراكيز معينة واحضنها بدرجة ٣٧°م لمدة ٢٤ ساعة
واليوم الثاني أقرأ :-

* إذا حصل Zone Inhibation حول الـ Disk او الـ well
← يعني انه sensitive (المضاد الحيوي فعال
قتل البكتيريا ومنع نموها حول الـ Disk او wells

* إذا حصل Zone Inhibation ← resistance ← البكتيريا مقاومة
للمضاد الحيوي لا حصل نمو حول المضاد الحيوي.

③ E-test (Epsylometer test)

هذا المضاد الحيوي على شكل شريط strep فحص شكل urive strep

ويكون هناك عدة تراكيز مثلاً 10 mg - 50 mg - 100 mg

وعلى نوع التركيز يحصل Zone Inhibition

* العيوب أننا نستخدم ٣ او ٤ streps لكل طحة.

لأن كل strep لمضاد حيوي واحد واحط عليه عدة تراكيز

بينما في الـ Disk diffusion او agar dilution ممكن استخدم

اكثر من عشرة مضادات حيوية

* احنا دائماً نشتغل بطريقة Disk Diffusion كيف اشتغلها :-

اولاً * حسب العينة التي اخذها من المريض ← نزرعها على الوسط الزراعي المناسب

ثم اعمل Biochemical test

احدد نوع البكتيريا Staph-aurious, E-coli, Klebsiella ~~Escherichi~~

pseudomonas ... ← أخذ المضاد الحيوي الخاص بـ gram +ve او -ve

اولاً - اعمل specimen prepration

← اخذ tube احط فيه 1-5 ml من الـ Normal Saline

اخذ one seperated colony ← احطها داخل الـ Normal Saline

بحيث ترجع معكرة (turbid) ((اننا خلطنا بكتيريا مع Normal Saline))

ثم اخذ قطن swab واخذ MHA او Nutrient agar واعمل labling لها

« اكتب رقم الدينه ونوع البكتيريا التي عزلتها » بعد بين اخذ
بـ swab مرة واحدة « أعمل الـ swab بـ Normal Saline مرة واحدة »

وابدأ افرد الطبق بهذا الشكل

احرك الطبق وافرد بالاتجاه المعاكس ، كمان افرد الطبق وارجع
افرد بالاتجاه المعاكس

الغرض:- توزيع البكتيريا على الطبق كامل (أغطي الطبق كامل بالبكتيريا)

× بعد ما افرد بكل الاتجاهات امسح بـ swab على حواف الطبق كامل
بحيث اكون فردت الطبق كامل

بعدها اخذ المضاد الحيوي [redacted] بيكون معي جهاز
واحط [redacted] بالجهاز « الطبق » ثم اضغط عليه بينزل المضاد
الحيوي Direct على الطبق.

او ممكن استخدم الطريقه التقليديه اخذ دسكات
بواسطه ديدل حق السرنج واحطها على الطبق
لما احطها على الطبق ممكن اخذ الطبق من الحلف واحد عليه مثلا على (+)
واحط بكل مكان مضاد حيوي.

Group A6

وتكون المسافات متساويه بين كل Antibitic ← علشان ماتحصل تداخل

للـ Zone Inhibition

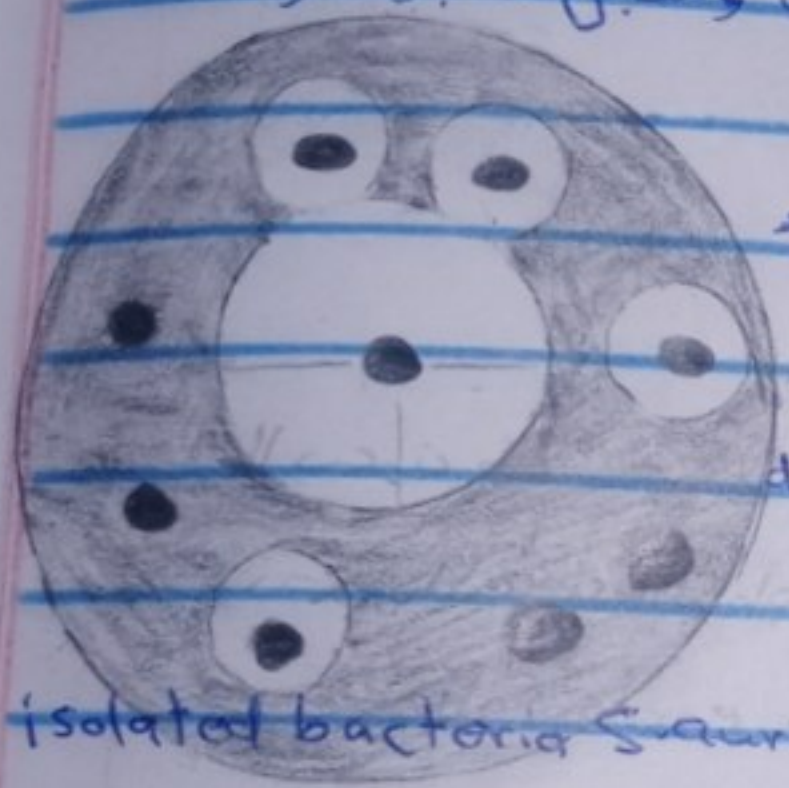
او ابدأ احط بالوسط بحدين اعمل مقابل له بالجنب ومقابل له بالبسار

ومقابل له فوق وتحت مقابل له تحت.

← يكون تقريباً خطيتهم بمسافات متساويه

خطها في ٣٧م° لمدة ٢٤ ساعه ثم اقرأ النتيجه

مثلاً ظهر لي الـ Zone الي فوق بهذا الشكل



* اذا أحد منهم resistance الي ماحصل اي Zone Inhibition ← 5

الي حصل لهم Zone Inhibition ← اخذ مسطرة ثم ابدأ احدد الـ Zone Inhibition منطقه من بدايته الى نهايته

← اخذ المسطرة بالـ mm واقيس حجم القطر كامله

احياناً يحصل تداخل بالـ Zone Inhibition ← * اما اذا وقف المنطقه الي ماحصل بها تداخل و اخذ القطر

* أو أخذ من نص القطر الى نهايه الـ Zone Inhibition

واضرب x2

موضوع الدرس: ____ اليوم: ____

التاريخ: / / ٢٠٢٠م الموافق: / / ١٤٤٠هـ

وبعد ما أخذ مسافه القطر حالا mm بيكون عندي مرجع (Reference)
موجود فيه كل اسماء البكتيريا والمضادات الحيويه لكل بكتيريا
وكاتبين عليه

S ⟶ Sensitive

M ⟶ Moderate

R ⟶ Resistance

طا يكون مثلاً هنا بالدكتور « مثل حقت اليوم, اليا طبقاً لكم بالاطباق »
وذكون الـ staph-aureus إما

Skin swab, Nasal swab, ear swab
(infection وتقل)

x طا اكتبا بالتقرير Source of specimen نقول Skin swab, Nasal swab, ear swab

x بعد ما حددت إسم البكتيريا احدد اسم المضاد الحيوي
مثلا كاتب بالمرجع :-

Reference:-

Ax 10 mg ⇒ Amoxicillin 10 mg

GeN 20mg ⇒ Gentamycin 20 mg

بيكتبوا اسم المضاد الحيوي مع التركيز تبعه.

* مثلاً كاتبين ان الاموكسا سيلين اذا كان 10 mg واقل يكون Resistance
واذا 10 mg - 15 يكون ← Moderate
واذا 15 mg وماقوق ← Sensitive.

(S) (M) (R)
>15 15-10 <10

* ابدأ أشوف الاموكسيلين وينهو بالك
أقرأ مسافه القطر كم طلعت ثم اقارنها بالمرجع واكتب بالتقرير
هل هو Sensitive او Moderate او Resistance

" تقرير اليوم رقم 21 "

Macferland:
Standard used to adjustment turbidity of bacterial suspention

Suspention:
- 5 ml N.S
One seperated colony

Group A6

Incubation :-

$37^{\circ} \rightarrow 24$ hrs.

Media :-

① Muller Hinton Agar MHA

② Nutrient Agar

Factor affect of Zone Inhibitor :-

① Density of media

② Concentration of Antibiotic

③ Size of Bacteria

* ملا ناخذ بكتيريا مع Normal salaine ملا نحضر الوديه ← يطلع لنا تعكر (Turbidity) بدرجه معينه عشان احدد كميه البكتيريا حقي اللي أخذتها انا.

لازم اقارن درجه التعكر بالبكتيريا حقي مع درجه التعكر حق Macferland لانه يعتبر standard

* اذا كانت درجه التعكر متساويه نعتبر حجم البكتيريا 0.5%